

Original Research

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* DENGAN METODE DISC DIFFUSION

Rina Nabila^a, Cicih Bhakti Purnamasari^b, Alhawaris^c

^a Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

^b Laboratorium Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

^c Laboratorium Oral Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

Korespondensi: rinanabila06@gmail.com

Abstrak

Periodontitis merupakan penyakit tertinggi keenam di seluruh dunia dengan *Porphyromonas gingivalis* sebagai salah satu bakteri penyebabnya. Daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) menunjukkan beberapa aktivitas antimikroba, seperti antibakteri dan anti-jamur. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *C. burmannii blume* terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Desain penelitian yang digunakan adalah *the post-test only control group design*. Bakteri *P. gingivalis* ditumbuhkan pada medium *Blood Agar Plate* (BAP) diberi perlakuan menggunakan ekstrak etanol *C. burmannii blume* dengan konsentrasi sebesar 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *C. burmannii blume* tidak membentuk zona hambat di sekitar paper disc terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* pada semua konsentrasi. Ekstrak etanol *C. burmannii blume* tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

Kata kunci: Antibakteri, Daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*), *Porphyromonas gingivalis*

Abstract

Periodontitis is the sixth highest disease worldwide with *Porphyromonas gingivalis* as one of the causative bacteria. Cinnamon (*Cinnamomum burmannii blume*) leaves exhibit several antimicrobial activities, such as antibacterial and anti-fungal. This study was conducted to determine the antibacterial activity of *C. burmannii blume* extract on the growth of *P. gingivalis*. The research design used was the *post-test only control group design*. *P. gingivalis* bacteria grown on *Blood Agar Plate* (BAP) medium were treated with ethanol extract of *C. burmannii blume* with concentrations of 10%, 20%, 30%, 40%, and 50%. Repetition is done 5 times. The results showed that the ethanolic extract of *C. burmannii blume* did not form an inhibitory zone around the paper disc on the growth of *P. gingivalis* at all concentrations. The ethanolic extract of *C. burmannii blume* does not have antibacterial activity on the growth *P. gingivalis*.

Keywords: Antibacterial, Cinnamon leaves (*Cinnamomum burmannii blume*), *Porphyromonas gingivalis*

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit yang paling luas di masyarakat, dengan jenis yang paling sering terjadi adalah gingivitis dan periodontitis.¹ Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit radang pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Penyakit ini mengakibatkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar disertai meningkatnya kedalaman probing, resesi, atau keduanya.² Penelitian Kassebaum (2010), penyakit periodontitis kronis adalah kondisi keenam yang paling umum dan mempengaruhi 10,8% atau 743 juta orang berusia 15-99 tahun di seluruh dunia. Demikian pula insidensi periodontitis kronis berdasarkan usia tidak berubah secara signifikan selama dua dekade sebelumnya antara tahun 1990 dan 2010, yaitu 696 kasus per 100.000 orang pada tahun 1990 dan 701 kasus per 100.000 orang per tahun pada tahun 2010.³

Periodontitis terjadi karena meningkatnya pembentukan biofilm plak dan virulensi bakteri yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara imunitas host dan bakteri.¹ Salah satu yang terlibat pada patogenesis periodontitis adalah *Porphyromonas gingivalis*, yang merupakan bakteri gram-negatif anaerob.⁴ Bakteri ini dapat dideteksi pada pasien dengan jaringan periodontal sehat di daerah sulkus subgingiva dan merupakan bagian dari flora normal, tetapi apabila populasi bakteri meningkat akan berubah menjadi pathogen dan dapat menyebabkan akumulasi plak.¹

Belakangan ini minat masyarakat untuk menggunakan bahan-bahan alami semakin meningkat. Hal ini dibuktikan dengan semakin

banyaknya industri-industri yang menggunakan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan dasar. Kenyataan ini mendorong dilakukannya penelitian-penelitian tentang tumbuhan-tumbuhan yang secara tradisional sering digunakan untuk mencegah atau mengobati berbagai penyakit.⁵ Indonesia sendiri dipenuhi dengan banyak jenis tanaman yang memiliki banyak khasiat. Salah satu tanaman yang berkhasiat yaitu tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*). *C. burmannii* telah menunjukkan aktivitas analgesik, antibakteri, anti-diabetes, anti-jamur, antioksidan, antirematik, anti-trombotik, dan anti-tumor.⁶ Hasil penelitian yang dilakukan oleh Jailani (2015) menunjukkan bahwa daun kayu manis mengandung sekitar 0,5-0,7% sinamaldehida, dengan kandungan utamanya adalah eugenol sekitar 70-95% dan sinamilasetat 3-4 %. Terdapat 30 studi yang berbeda mengevaluasi bahwa tanaman kayu manis memiliki potensi sebagai anti-mikroba. Bakteri yang sudah diteliti antara lain *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus Influenza*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus albus*, dan *Yersinia enterocolitica*. Hal ini membuktikan bahwa tanaman kayu manis telah menunjukkan potensi aksi anti-mikroba terhadap berbagai bakteri.⁷ Sedangkan data yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari kayu manis terhadap *Porphyromonas gingivalis* belum ditemukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk menguji aktivitas ekstrak daun kayu manis terhadap pembentukan zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *True eksperimental* yang menggunakan desain penelitian *the post-test only control group design*. Digunakan uji *Disc Diffusion* untuk melihat respon pertumbuhan bakteri terhadap agen antibakteri.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kayu manis (*C. burmannii blume*) yang bentuknya bagus tidak ada kecacatan, daun berwarna hijau tua yang diperoleh dari Bontang, Kalimantan Timur. Sedangkan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *P. gingivalis* standar ATCC 33277 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini telah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman dengan nomor surat NO. 22/KEPK-FK/III/2021.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kayu manis (*C. burmannii blume*) dan etanol 96%, kertas label, *blank disc*, sediaan bakteri *P. gingivalis*, *chlorhexidine gluconate* 0,2%, *aquadest sterile*, *GasPak Generator envelope*, *NaCl*, *blood agar*, *sheep blood*, *APD*, dan kertas saring Whatman no. 42.

Alat

Peralatan yang digunakan adalah alat tulis, timbangan, peniris, lemari pengering, *blender*, corong buchner, *laboratory bottle*, *rotary vacuum evaporator*, toples kaca, timbangan analitik, oven, ose, pinset, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *micropipet*, jangka sorong/penggaris, spidol, *incubator*, gelas laboratorium/*breaker glass*, *autoclave*, *vortex*, *petridish*, *anaerob jar*, dan *spektrofotometer*.

Metode

1. Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15-30 menit. Alat yang tidak dapat disterilkan menggunakan autoclave disterilkan dengan etanol 96%.

2. Pembuatan ekstrak etanol daun kayu manis

Daun kayu manis (*C. burmannii*) dicuci bersih dan dikeringkan dalam lemari pengering selama 5 hari pada suhu 40°C. Daun yang sudah kering dihaluskan dengan cara diremas dan diblender. Daun yang sudah halus dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 2 L dan dikocok selama 5 menit. Setelah 4 hari proses maserasi dihentikan, dilanjutkan dengan melakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman no. 42. Ekstrak yang disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan akan didapatkan ekstrak daun kayu manis yang kental⁸.

3. Pembuatan media

Pada penelitian ini menggunakan media Blood Agar Plate (BAP) yang dibuat dengan cara menimbang Blood Agar Base (BAB) sebanyak 40 gram. Untuk 40 gram blood agar base membutuhkan 1 liter aquadest. Tetapi dikarenakan adanya penambahan sheep blood sebanyak 50 ml, aquadest yang ditambahkan sebanyak 950 ml, lalu aduk hingga merata. Sterilkan media dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuangkan blood agar base dan hangatkan pada suhu ruangan terlebih dahulu. Tambahkan 5-7% atau 50 ml sheep blood dan

homogenkan. Kemudian dituang ke dalam *petridish* dengan diameter 10 cm yang telah disterilasi terlebih dahulu.

4. Pembuatan Suspensi Bakteri *P. gingivalis*

Pembuatan suspensi bakteri *P. gingivalis* dilakukan dengan menyiapkan tabung reaksi yang telah berisi 5 ml NaCl steril lalu inokulasikan 1-2 ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *P. gingivalis* kedalam tabung reaksi. Homogenkan dengan menggunakan *Vortex mixer*. Tingkat kekeruhannya diukur menggunakan spektrofometer dengan absorbansi 0,132 pada panjang gelombang 625 nm hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland. Jika terlalu keruh tambahkan NaCl dan jika kurang keruh tambahkan bakteri *P. gingivalis* NaCl. Kemudian dihomogenkan kembali menggunakan *Vortex mixer* hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland⁹.

5. Uji antibakteri

Untuk uji antibakteri digunakan media Blood Agar Plate (BAP) yang sudah disiapkan dan sudah dalam suasana anaerob. Media yang telah disiapkan kemudian dibuat menjadi 7 bagian menggunakan spidol di bagian bawah *petridish* untuk menandakan masing-masing ekstrak etanol daun kayu manis (*C. burmannii*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, *clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest steril*.

Pertama-tama, celupkan kapas lidi steril (*cotton buds*) ke dalam tabung yang berisi suspensi biakan bakteri *P. gingivalis*, lalu dioleskan perlahan dan secara merata ke seluruh bagian permukaan media BAP. Pencelupan dan pengolesan ini dilakukan beberapa kali untuk memastikan seluruh

permukaan terkena olesan dari suspensi bakteri tersebut secara merata.

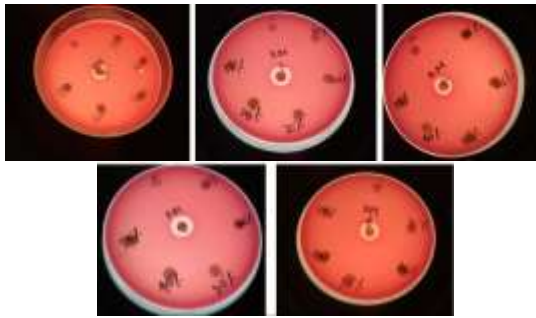
Kemudian, tempelkan paper disc yang telah direndam dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, *Clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest steril* menggunakan pinset steril sambil dilakukan penekanan ringan pada media yang telah ditandai dengan spidol. Lakukan pengulangan sebanyak lima kali pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, *Clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest steril*. Setelah itu, *petridish* diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 35°C selama 24 jam. Suasana anaerob di dalam lingkungan untuk pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* didapatkan dengan menggunakan *anaerob jar* yang di dalamnya terdapat *GasPak Generator envelope CO₂*.

6. Pengukuran zona hambat

Setelah dilakukan inkubasi 24 jam dilakukan pengukuran zona hambat atau zona inhibisi. Dilakukan pengukuran setiap zona bening di sekitar disc, pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong¹⁰. Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat lalu dikurangkan dengan diameter disc.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dilihat dengan mengukur zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar *paper disc* pada masing-masing kelompok konsentrasi uji yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan kelompok kontrol positif serta kontrol negatif setelah 24 jam diberikan perlakuan.



Gambar 1. Hasil penelitian Pemberian Ekstrak Daun Kayu Manis (*C. burmannii blume*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Zona bening tidak terlihat di sekitar *paper disc* yang telah diberikan ekstrak daun kayu manis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% serta kontrol negatif. Hanya pada kontrol positif yang menunjukkan adanya zona bening di sekitar *paper disc* tersebut. Kemudian pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong dan data yang diperoleh dimasukkan dalam tabel berikut.

Tabel 1. Hasil zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada ekstrak daun kayu manis (*C. burmannii blume*)

Konsentrasi %	Pengulangan					Mean (mm)
	I	II	III	IV	V	
10%	-	-	-	-	-	-
20%	-	-	-	-	-	-
30%	-	-	-	-	-	-
40%	-	-	-	-	-	-
50%	-	-	-	-	-	-
<i>Clorhexidine gluconate</i> 0,2%	5,7	5,3	4,4	4,1	6	5,17
Aquadest	-	-	-	-	-	-

Pada tabel di atas menunjukkan hasil bahwa tiap konsentrasi uji ekstrak daun kayu manis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% tidak menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* yang telah dilakukan pengulangan sebanyak lima kali.

Aquadest steril sebagai kontrol negatif juga tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *P. gingivalis*. Sementara *Clorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif terbentuk zona hambat terhadap bakteri *P. gingivalis* berdiameter rata-rata 5,17 mm dengan diameter disc sebesar 6 mm. Menurut David dan Stout (1971) kekuatan daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat dibagi menjadi empat kategori yaitu sangat kuat (zona hambat lebih dari 20 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), sedang (zona hambat 5-10 mm) dan lemah (zona hambat kurang dari 5 mm).¹¹

Tumbuhan kayu manis memiliki kandungan sinamaldehyd, sinamat, asam sinamat dan beberapa jenis senyawa minyak atsiri sebagai komponen utamanya. Kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor baik internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal diantaranya seperti cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara didalam tanah dan ketinggian tempat. Ketinggian tempat yang berbeda akan menghasilkan suhu yang berbeda pula. Ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Serangkaian proses metabolisme pada tanaman akan terganggu sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat.¹² Faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi jumlah zat antibakteri yang terdapat pada sampel. Hal ini dapat menyebabkan tidak terbentuknya zona hambat dikarenakan ketidakmampuan dalam merusak membran sel dan mengganggu proses fisiologis sel.¹³

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob gram-negatif yang berada di subgingiva biofilm.¹⁴

Bakteri Gram negatif memiliki cara untuk melindungi membran selnya dari penetrasi bahan antibakteri. Dinding sel bakteri gram negatif mempunyai struktur yang lebih kompleks tetapi lebih tipis dibandingkan dinding sel bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memiliki 2 membran, yaitu membran sitoplasma dan membran luar (outer membrane) dan adanya ruang periplasmic.¹⁵ Outer membran tersusun atas lipopolisakarida (LPS) yang terdiri dari lipid A, rantai pendek gula dan antigen O. Antigen O dan polisakarida berperan dalam mencegah penetrasi senyawa hidrofobik ke dalam membran sel. Adanya struktur membran luar yang kompleks inilah yang membatasi akses senyawa aktif antibakteri ke dalam membran sel. Hal ini menjadikan bakteri gram negatif lebih resisten terhadap senyawa aktif antibakteri.¹⁶

Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Zhang (2017) menyatakan bahwa eugenol menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* ditandai. Eugenol menyebabkan kebocoran asam nukleat dan protein dari sel.¹⁷ Sedangkan Sinamaldehida berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri dengan cara menurunkan polaritas dan meningkatkan permeabilitas dalam waktu dan konsentrasi tertentu.¹⁸

Selain disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder dari daun kayu manis (*C. burmannii blume*) dan struktur bakteri yang digunakan, tidak terbentuknya zona hambat bisa juga disebabkan oleh faktor lain seperti konsentrasi ekstrak uji yang digunakan. Tidak terbentuknya zona hambat ini dapat disebabkan karena senyawa aktif tersebut tidak terdeteksi di dalam konsentrasi yang sudah ditentukan. Jika

konsentrasi uji yang dipilih semakin tinggi maka jumlah senyawa aktif yang terkandung pada konsentrasi uji memiliki jumlah lebih banyak.¹⁹ Berbeda dengan penelitian terdahulu yang dilakukan Qomar, ekstrak daun kayu manis pada konsentrasi 20% dapat membentuk zona hambat pada bakteri anaerob.²⁰

Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah *disc diffusion*. Metode uji antibakteri sendiri terbagi menjadi dua, yaitu difusi dan dilusi. Metode difusi terdiri dari disc diffusion, sumuran dan parit. Peneliti memilih metode disc diffusion dikarenakan metode ini memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya yaitu mudah untuk dilakukan, tidak membutuhkan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kekurangannya yaitu zona hambat yang terbentuk sangat bergantung pada kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan ketebalan medium.²¹⁻²² Pada penelitian ini menggunakan suhu inkubasi 35°C dan inkubasi dilakukan selama 24 jam. Penelitian yang dilakukan Ohara-Nemoto menunjukkan bahwa bakteri *P. gingivalis* tumbuh pada suhu 35°C²³. Namun berbeda dengan penelitian Pujiastuti, ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) menunjukkan zona hambat pada bakteri *P. gingivalis* di suhu inkubasi 37°C²⁴. Kemudian, ketebalan medium pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran sehingga ketebalan media Blood Agar Plate (BAP) tidak dapat diketahui.²¹

Media pertumbuhan bakteri merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan secara *in vitro*.²⁵ Media pertumbuhan harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri.²⁶ Pada BAP kebutuhan akan protein tercukupi dengan adanya *sheep blood*.²⁷ Perkembangan bakteri

pada *blood agar* yang mengandung 5% *sheep blood* dapat meningkatkan pigmentasi dari koloni jenis *Porphyromonas spp.* *P. gingivalis* merupakan organisme *asaccharolytic* yang bergantung pada substrat nitrogenous untuk energi. Selain itu bakteri ini juga memanfaatkan peptida untuk tumbuh secara efisien, serta hemin yang berisi senyawa seperti albumin, transferrin dan laktoferin untuk mendukung pertumbuhannya.²⁸ Selain itu, *P. gingivalis* juga membutuhkan ketersediaan vitamin K di lingkungannya.²⁹

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data yang sudah dilakukan peneliti, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol Daun Kayu Manis (*C. burmannii blume*) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada drg. Cicih Bhakti Purnamasari, M.Med.Ed dan Bapak Alhawaris, S.Si., M.Kes sebagai pembimbing, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember sebagai penyedia bakteri, Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman, serta seluruh staf Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman dan UPTD. Laboratorium Kesehatan Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur dan semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dharmawati, I. G. A., Mahadewa, T. G. B. & Widyadharma, I. P. E., Antibacterial Activity of Lumbricus Rubellus Earthworm Extract Against Porphyromonas Gingivalis as the Bacterial Cause of Periodontitis. *Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2019.
2. Carranza, F. A., Newman, M. G., Takei, H. H. & Klokkevold, P. R., *Clinical Periodontology*. 13th Edition ed. Los Angeles, California: Elsevier. 2018.
3. Frencken, J. E. et al., *Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review*. Birmingham, UK: Journal of Clinical Periodontology. 2017.
4. Mysak, J. et al., Porphyromonas gingivalis: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *Journal of Immunology Research*. 2014.
5. Miksusanti, Betty Sri Laksmi, J., Rizal syarief, Bambang pontjo, Gatot tri mulyadi., Antibacterial Activity Of Temu Kunci Tuber (*Kaempferia pandurata*) Essential Oil Against *Bacillus cereus*, *Med J Indones* 2009., vol 18 No1:11
6. Al-Dhubiab, B. E., *Pharmaceutical applications and phytochemical profile of Cinnamomum burmannii*. Saudi Arabia: PHCOG REV. 2012.
7. Ranasinghe, P. et al., Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013.
8. Mpila, D., Fatimawali, & Wiyono, W. Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MAYANA (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN-VITRO. *Jurnal of MIPA*. 2012.

9. Siahaan, S. P., Isnindar, & Rialita, A. Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA BIJI BUAH LANGSAT (*Lansium domesticum* Cor.) Terhadap *Salmonella Typhi*. *Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran Untan*, 2014.
10. Hudzicki, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*. 2016.
11. Davis, W.W and Stout, T.R. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 1971; p. 659-665.
12. Katuuk, R., Wanget, S., & Tumewu, P. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L). *COCOS*. 2019.
13. Suryati, N., Bahar, E., & Ilmiawati. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe vera Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2017; p. 518-521.
14. Enersen, M. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Journal of Oral Microbiology*. 2013.
15. Murwani, S., Santosaningsih, D., & Ramadhona, A. Protein Pattern of Outer Membrane Protein *Salmonella Typhi* That Isolated Using N-Octyl Glucoseide and Sarcosyl. *Maj. Kedok. Unibraw*. 2002.
16. Yuhyi, A. N., Praharani, D., & W., M. The Inhibition Effect of Manalagi Apple (*Malus sylvestris* Mill.) Extract to The Growth of *Porphyromonas gingivalis*. *PROSIDING THE 3th DENTISTRY SCIENTIFIC MEETING OF JEMBER*. 2016.
17. Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, X., Cao, P., Wei, S., & Lu, Y. Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. 2017.
18. Shen, S., Zhang, T., Yuan, Y., Lin, S., Xu, J., & Ye, H. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane. 2015.
19. Clarissa, C., Amir, M., & Asfirizal, V. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* In-vitro. *J. Ked. Mulawarman*, 2020; p. 7.
20. Qomar, M. S., Budiyanto, M. A., Sukarsono, Wahyuni, S., & Husamah. Efektivitas berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* [Ness.] Bl) terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Biota*. 2018.
21. Pelczar, M.J., E.S.Chan. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. 1988.
22. Bonang G. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 1992.
23. Ohara-Nemoto, Y., Rouf, S., Naito, M., Yanase, A., Tetsuo, F., & Ono, T. Identification and Characterization of Prokaryotic Dipeptidyl-peptidase 5 from *Porphyromonas gingivalis*. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. 2014.
24. Pujiastuti, P., & Lestari, S. Perbedaan Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridans*. *JKG Unej*, 12(1), 2015; p. 1–4.
25. Harti, A.S. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: CV. Andi offset. 2014.
26. Atlas, Ronald M. *Handbook of Microbiological Media fourth Edition Volume 1*. United States Of America: CRC Press. 2004.

27. Krihariyani, D., Woelansari, E. D., & Kurniawan, E. Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, AB, dan Darah Domba Sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan*. 2016; p. 191–200.
28. Widodo, S. A., Kusumawardani, B., & Fatmawati, D. W. Identification of Anaerobic Bacteria Cell Shape Based on Colony Color in Gingival Crevicular Fluid of Chronic Gingivitis and Chronic Periodontitis. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. 2014.
29. Septiwdiyati, T. R., & Bachtiar, E. W. The Role of *Porphyromonas gingivalis* Virulence Factors in Periodontitis Immunopathogenesis. *dentika Dental Journal*. 2020.